

## Bakteriološka slika vode veštačkih ribnjaka i ribljeg mesa

A. Oluški, L. Tumbas, D. Tomčov

### Izvod

U radu je obrađeno bakteriološko ispitivanje vode u ribnjacima Vojvodine kao i bakteriološka analiza krljušti, škrga i mesa šarana. Utvrđene su razlike u analizama vode u ovisnosti od godišnjeg doba i sloja vode, kao i razlike u bakteriološkim analizama površine trupa i mesa šarana.

### UVOD

Meso riba i proizvodi od riba postaju sve značajnije namirnice. Poznato je, naime, da je meso riba lako svarljivo i da sadrži nezamenjive aminokiseline, brojne vitamine i mineralne materije kao i esencijalne masne kiseline. Zbog toga je, procenjavano s gledišta fiziologije ishrane, izvanredna namirnica.

Poznato je da naša zemlja po potrošnji ribljeg mesa stoji među poslednjim u svetu. Ribolov je u nas ograničen na ulov industrijske ribe (sardela, skuša, tunja) zbog toga što su te ribe podesnije za preradu. Životinje za klanje se, za razliku od riba, sporo reprodukuju. Zbog toga je meso riba vrlo perspektivni izvor belančevina animalnog porekla.

Izvori i putevi širenja bakterijskih kontaminacija u proizvodnji i preradi mesa su brojni i poznati što nije slučaj kod slatkododne ribe. U nas se do danas tom problematikom nije posvećivala pažnja. Tek u poslednje vreme pošto se ovoj vrsti mesa, kao biološko kvalitetnoj namirnici pridaje sve veći značaj, a način prerade — vezan za higijensku ispravnost — ulazi u prvi plan, ta je problematika postala aktuelna i za prilike u našoj Pokrajini.

U literaturi ima podataka o hemijskom sastavu i hranljivoj vrednosti mesa riba. Nema, međutim, objavljenih rezultata istraživanja higijenskog kvaliteta mesa slatkododnih riba u proizvodnji i prometu posmatranih sa stanovišta zdravlja ljudi. Poznavanje mikroflora mesa riba je od posebnog značaja za proizvodnju i preradu jer se samo na taj način može osigurati higijenski kvalitet i održivost proizvoda.

Uzročnici zoonoza (TBC, salmoneloza, leptospiroza, brucelozna, ehinokokoza, trihinelozna itd.) i mogućnosti oboljenja ljudi i preko kontaminiranog mesa

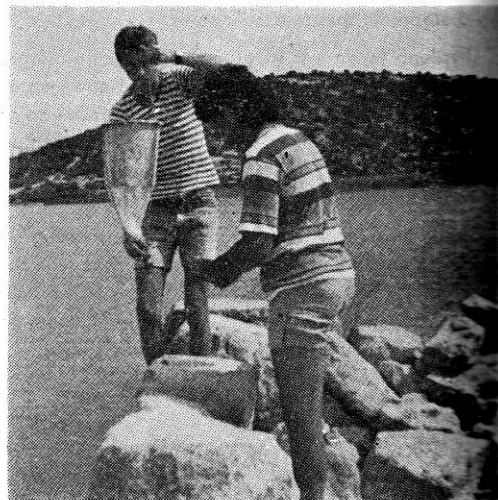
proizvoda od mesa životinja za klanje su poznati. Pri proizvodnji i preradi riba, zdravstveno higijenske mere pretežno se preduzimaju u nameri da se spreči unošenje uzročnika zaraznih bolesti nekontrolisanim transportom riba, ili se pak obolele ribe podvrgavaju terapiji. Koliko je nama poznato, nema zakonskih propisa prema kojima bi se vršila higijenska kontrola proizvodnje mesa riba i proizvoda od riba u cilju zaštite ljudskog zdravlja.

Savremena proizvodnja i prerada mesa životinja za klanje ne može se zadovoljiti isključivo vizuelnom ocenom proizvoda. U svetu, pa i u nas, usvojena je bakteriološka kontrola proizvoda od mesa u cilju sticanja uvida u higijenski kvalitet proizvoda i mogućnosti predviđanja njihove održivosti.

Uvođenje metoda bakteriološkog ispitivanja mesa riba i proizvoda od riba bio bi doprinos nauci i praksi proizvodnje i prerade ove, tako vredne i značajne namirnice.

### MATERIJAL I TEHNIKA RADA

Ribe (šaran) uzgojene u veštačkom ribnjaku u Vojvodini dopremljene su još žive u laboratoriju Instituta. Bakteriološki je ispitivano po pet šarana, i to četiri puta kvartalno, u toku godine. Uporedo sa dopremljenom riba donešeni su i uzorci vode iz ribnjaka uzeti



Dr Ana Oluški, dipl. vet., Lajčo Tumbas dipl. vet., Dragica Tomčov, dipl. vet.

Tehnološki fakultet, Institut za tehnologiju mesa, mleka, ulja i masti i voća i povrća, Novi Sad.

sa raznih mesta i to kako iz površinskih (do 50 cm) tako i iz dubokih slojeva. Ispitano je po pet uzoraka površinskih i po pet uzoraka dubljih slojeva vode, četiri puta u toku godine. Uzorci vode su napunjeni u sterilne boce sa zapašaćem od stakla. Prilikom uzimanja uzoraka površinskih slojeva jednom je rukom otvoren zapašać a drugom potopljena boca u vodu. Nešto je bio složeniji način uzimanja uzoraka iz dubljih slojeva vode. U polivinilne kesice stavljeni su tegovi, kesice su vezane kanapom a zatim privezane za grlo boce. To je omogućilo da bočica potone u vodu. Drugi kraj konopa ostao je u ruci i omogućio da se napunjena boca izvuče iz vode U momentu kada se bočica nalazila na određenoj dubini, kanap vezan za zapašać je povučen a bočica napunjena vodom.

#### Bakteriološko ispitivanje vode i površina trupova

Uzorci vode pri zasejavanju su dobro promućkani kako bi se mikroorganizmi ravnomerno rasporedili. Određene količine vode zasejane su u Petrijeve ploče na prelivene otopljenim hranljivim agarom ohlađenim 45° C. Svako decimalno razređenje zasejano je na dve ploče. Ploče su inkubirane pri 10 i 35° C 48 časova. Nalaz *Streptokoka* dokazivan je na podlozi sa teluritom i na podlozi po Barnesu.

Koliformni mikroorganizmi ispitivani su standardnom metodom epruveta za fermentaciju. Odmerena količina vode prenet je u niz epruveta za fermentaciju u kojima se nalazio bujon sa laktozom. Zasejavano je po 5 epruveta sa po 1. ml., 0,1 ml. 0,01 ml. uzoraka vode. Za određivanje količina metodom MPN korišćen je MacConkey bujon. Po 1. ml. određenog razređenja uzorka vode zasejan je u 9. ml. podloge. Epruvete su inkubirane pri 44,5° C. 48 časova. MPN je određen na osnovu stvaranja gasa u Durhamovim cevčicama. Ukoliko je utvrđeno stvaranje gasa u toku 48 časova pri 44,5° C, rađen je potvrdni test presejavanjem na VRB — violet-red-bil-agar. Ploče su u tim slučajevima inkubirane pri 37° C 24 časa. *Escherichia coli* na VRB podlozi rastu u vidu zatvoreno-crvenih kolonija sa metalnim sjajem.

Nalaz koliforma je pozitivan ako se stvori gas u jednoj od epruveta i ako se dokažu gram-negativni, nepatogeni štapići sa tipičnim rastom na čvrstoj podlozi, a negativan ukoliko nema gasa ili ako se ne mogu da dokažu gram-negativni štapići. Za nalaz mikroorganizama *Proteus* vrste korišćen je briljant zeleni agar a za nalaz sulfitoredujućih klostridija korišćen je sulfadni agar.

Za identifikaciju gram negativnih štapičastih heterotrofih aerobnih ili fakultativno anaerobnih bakterija korišćeni su postupci: dokazivanje pokretljivosti, reakcija na oksidazu, sposobnost da stvaraju pigment, reakcija na podlozi sa lakmus mlekom, rast i reakcija na podlogama po King-u, Hughu i Leifsonu, određivanje sposobnosti rasta pri 42° C. Na taj način su odvojeni *Enterobacteriaceae* od drugih gramnegativnih štapića koje pripadaju vrstama *Alcaligenes*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*.

Uzorci za dokazivanje bakteriološke slike krljušti i škrga uzimani su metodom briseva. Bakteriološka slika ispitana je istim metodama koje su bile korišćene i prilikom pregleda vode.

#### Bakteriološki pregled mesa

Trup šarana je očišćen od krljušti, odsečena glava, opran pa stavljen na sterilnu tacnu. Površina trupa se opali plamenikom. Sterilnim skalpelom odseče se uzorak mesa, uz pomoć pincete stavi se na topionik gde se homogeniše. Naprave se decimalna razređenja, koja se zasejavaju na tečne i čvrste podloge. Ispitivanja su obuhvatila sve vrste mikroorganizama prema čl. 3. Pravilnika (Sl. list SFRJ br. 55/73). Sem toga ispitan je ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija. Korišćen je način ispitivanja koji je propisan «Pravilnikom o metodama vršenja mikrobioloških analiza i superanaliza životnih namirnica», (Sl. list SFRJ br. 8/77).

Mikroorganizmi su determinisani prema Bergy's manual of Determinative Bacteriology (7 izdanje).

#### REZULTATI I DISKUSIJA

Kako se vidi iz rezultata prikazanih u tabl. 1. i grafikona 1. i 2. postoji očita razlika u količini mezofilnih i psihrofilnih bakterija u površinskom sloju vode i u njenim dubljim slojevima. Površinski slojevi su bez obzira na godišnja doba manje zagađeni od dubinskih. U toplijim tromesečjima (mart—septembar) broj bakterija je manji nego u periodu kada su temperature niže (septembar—mart). Najveći broj aerobnih bakterija kako mezofilnih tako i psihrofilnih živi u vodi u zimskom periodu.

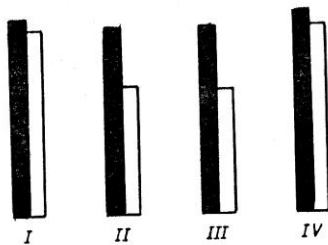
Tokom čitave godine i u dubini i u površinskim slojevima nalaze se sulfitoredujuće klostridije i koliformni mikroorganizmi. Za *Streptokoke* i *Proteus* vrste pogodna sredina za život je dublja voda bez razlike na vremenski period. Iz rezultata je nadalje vidljivo da bakteriološka slika vode u ribnjacima u mnogome zavisi od godišnjeg doba i vremenskih prilika. U nekim rekama pored naselja u ml. vode nalazi se od 200 do 400 hiljada mikroorganizama (Uklis i Martmarova), U matici reka taj broj je uvijek manji u odnosu na broj mikroorganizama pored obale. Naši rezultati se podudaraju sa navodnima Uklis i Martmarove. Bakteriološka slika veštačkih jezera je vrlo slična bakteriološkoj slici priobalja reka. Stepent bakterijske zagađenosti vode određuje se na osnovi ukupnog broja bakterija, na osnovi patogenih vrsta i na osnovi kolutitra. U vodi za piće ne sme biti patogenih mikroorganizama. Prema našem nalazu voda u kojoj se razmnožavaju i žive ribe daleko je od kvaliteta pijaće vode. U njoj se nalaze ne samo indikatori fekalnog zagađenja (*Streptokoke* i Koliformi) već i patogeni mikroorganizmi (*Proteus* vrste i Sulfitoredujuće klostridije). Očito je da je organizam riba otporan na određene vrste za čoveka patogenih mikroorganizama. *Echerichia coli*, kao i

Tablica 1. Bakteriološka slika vode ribnjaka

Trome- sečje	Mesto uzimanja uzoraka	Broj bakterija*		Bakterije iz roda Alkali- genes Flavobac- terium Pseudomonas Achromobacter Aeromonas	Strepto- coccus	Staphylo- coccus aureus	Proteus vrste	M. P. N. koli titar	Sulfitore- dukujuće klostridije
		Mezofil. vrsta	Psihrofil. vrsta						
Prvo	Površina	40.10 <sup>3</sup>	4.10 <sup>3</sup>	+	—	—	+	400	+
Prvo	Dubina	52.10 <sup>3</sup>	11.10 <sup>3</sup>	+	+	—	+	1200	+
Drugo	Površina	7.10 <sup>3</sup>	5.10 <sup>2</sup>	+	—	—	—	200	+
Drugo	Dubina	10.10 <sup>3</sup>	27.10 <sup>2</sup>	+	+	—	+	500	+
Treće	Površina	5.10 <sup>3</sup>	260	+	—	—	—	200	+
Treće	Dubina	18.10 <sup>3</sup>	13.10 <sup>2</sup>	+	+	—	—	750	+
Četvrto	Površina	25.10 <sup>3</sup>	12.10 <sup>3</sup>	+	+	—	+	500	+
Četvrto	Dubina	66.10 <sup>3</sup>	30.10 <sup>3</sup>	+	+	—	+	1600	+

\*Prosek po tromesečju

Grafik br. 1 Bakteriološka slika površine vode ribnjaka



## LEGENDA

Odnos broja bakterija zavisno od godišnjeg doba

■ mezofilnih  
□ psihofilnih

I januar, februar, mart  
II april, maj, juni  
III juli, avgust, septembar  
IV oktobar, novembar, decembar

Salmonellae vrste mogu se ponekad (nedovoljno kuvanje mesa) preneti na ljude, a da same ribe ne obole. Trovanja Paratifus i Enteritis bakterijama posle konzumiranja riba nisu nemoguća. U crvenom traktu riba su pronađene:

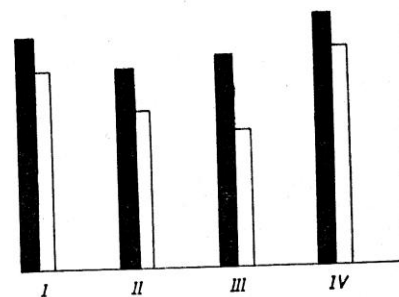
Shigella vrste, Streptokoke, Clostridium botulinus, Cl. tetani Staphyl. aureus (H. H., Reichabach-Klinke.). I naši nalazi potvrđuju takvu mogućnost. Uslovi uzgoja riba u veštačkim ribnjacima nameću obavezu da se riba, po svom izgledu zdrava, prilikom kulinarske pripreme savesno obradi toplotom.

Na krljuštima riba i na škrgama koje su u direktnom kontaktu sa sredinom (vodom ribnjaka) nalazi se veliki broj različitih vrsta mikroorganizama kako se vidi iz tablice 2.

Krljušti su manje zagađene od škrga. Mezofilni mikroorganizmi su i na krljuštima i na škrgama nešto zastupljeniji od psihofila. Temperaturna kolebanja vode ne utiče tako izrazito na broj aerobnih mikroorganizama bilo na škrgama bilo na krljuštima kao što može da utiče na broj mikroorganizama u vodi. Na krljuštima nisu nađeni patogeni mikroorganizmi iz familije Enterobacteriaceae niti su nađene sulfitoredukujuće klostridije.

Mada se u vodi, na krljuštima i škrgama nalazi znatan broj mikroorganizama, u mesu zdravih riba ima ih vrlo malo (10 do 100) kako se vidi iz tablice 3. Pato-

Grafik br. 2 Bakteriološka slika vode iz dubine ribnjaka



## Legenda:

Odnos broja bakterija zavisno od godišnjeg doba

■ mezofilnih  
□ psihofilnih

I januar, februar, mart  
II april, maj, juni  
III juli, avgust, septembar  
IV oktobar, novembar, decembar

Tablica 2. Bakteriološka slika briseva sa krljušti i škrge riba

Trome- sečje	Mesto pregleda	Broj bakterija*		Bakterije iz roda Alkali- genes Flavo- bacterium Pseudomonas Achromobacter Aeromonas	Strepto- coccus	Staphylo- coccus aureus	Sulfitore- dukujuće klostridije	Proteus vrste	M. P. N. koli titar
		Mezofil. vrsta	Psihrofil vrsta						
Prvo	Krljušti	10.10 <sup>4</sup>	6.10 <sup>3</sup>	+	—	—	—	—	—
Drugo	Krljušti	10.10 <sup>3</sup>	8.10 <sup>2</sup>	+	—	—	—	—	—
Treće	Krljušti	30.10 <sup>4</sup>	25.10 <sup>3</sup>	+	+	—	—	—	—
Četvrto	Krljušti	18.10 <sup>3</sup>	20.10 <sup>2</sup>	+	+	—	—	—	—
Prvo	Škrge	13.10 <sup>4</sup>	10.10 <sup>4</sup>	+	+	—	+	+	220
Drugo	Škrge	80.10 <sup>4</sup>	68.10 <sup>4</sup>	+	+	—	+	+	160
Treće	Škrge	17.10 <sup>5</sup>	50.10 <sup>4</sup>	+	+	—	+	+	400
Četvrto	Škrge	32.10 <sup>4</sup>	28.10 <sup>3</sup>	+	+	—	+	+	200

\*Prosek po tromesečju

gene bakterije nisu nađene. Meso riba je verovatno u dubini sterilno. Mali broj aerobnih bakterija koje su nađene u mesu, unesu se u uzorak sa površine zbog nedovoljne dubine komada mesa.

Naši nalazi (tabl. 2 i 3) ukazuju na velike mogućnosti nastajanja kvara mesa riba koje se skladišti ili mesa koje se prerađuje u različite proizvode. Prisustvo bakterija iz reda *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, poznatih uzročnika kvara mesa, dokazano je u svim pregledanim uzorcima vode, krljušti i škrge. U vodi i na škrgrama su nađene i sulfitoredujuće klostridije. Poznata je velika encimatska aktivnost upravo te mikroflora koja je nađena na površini trupova i škrge zbog čega, pri nepoznavanju higijensko sanitarnih mera ili propusta prilikom sprovođenja tih mera, može da nastane brzi kvar mesa riba i proizvoda prerade ribljeg mesa. Mesta prodiranja mikroorganizama u mesa riba su: škrge ili površina trupova u čijoj sluzi se nalazi uvek veliki broj bakterija, (voda), crveni trakt (hrana), ugruvna, i zgnječena mesta (nepažljivi postupci). Svaka povreda tkiva ribe je pogodno mesto za prodiranje mikroorganizama u meso, jer kako su ispitivanja pokazala (tabl. 1. i 2.) na površini riba ima mnogo saprofita mogućih uzročnika kvara.

Tablica 3. Bakteriološka slika mesa ribe šaran posle ulova\*

Trome- sečje	Broj aerobnih bakterija u 1. g.	Proteus vrste u 1. g.	E. Cili u 1. g.	Staphylococ- cus aureus u 1. g.	Sulfitoredu- kujuće klostridije u 1. g.	Salmonellae vrste u 25. g.
Prvo	100	∅	∅	∅	∅	∅
Drugo	60	∅	∅	∅	∅	∅
Treće	40	∅	∅	∅	∅	∅
Četvrto	100	∅	∅	∅	∅	∅

\*Prosek za tromesečje

Da bi se izbegao kvar potrebno je, odmah posle ulova ribu ohladiti i transportovati do mesta prerade. Temperatura ribe, pranje u tekućoj vodi, brza i pažljiva

obrada na mehanizovanim tehnološkim linijama je od osobitog značaja za dobijanje kvalitetnog ribljeg mesa i proizvoda prerade mesa riba.

## ZAKLJUČAK

1. Površinski slojevi vode jezera u kome se uzgajaju ribe su bez obzira na godišnje doba, manje zagađeni od dubinskih.
2. U periodu mart — septembar broj bakterija je manji kako u površinskom tako i u dubljim slojevima nego u periodu septembar — mart.
3. Tokom čitave godine i u površinskom i u dubinskim slojevima nalaze se koliformne bakterije gram-negativni štapići koji pripadaju vrstama *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas* kao i sulfitoreduktivne, klostridije. Za *Streptococcus* i *Proteus* vrste pogodna sredina za život je dublja voda i to i u hladnijim vremenskim periodima.
4. Na krljuštima i površinama škrge nalaze se različite vrste mikroorganizama. Godišnja doba ne utiču znatnije na njihov nalaz. Na krljuštima nisu nađeni patogeni mikroorganizmi za razliku od škrge na kojima ih ima.
5. U mesu zdravih riba ima tek neznatan broj aerobnih bakterija (do 100 u gramu). Taj se broj može i u Pravilniku o bakteriološkim normama za riblje meso tolerisati.
6. Meso riba koje su bile uzgojene u veštačkim ribnjacima je podesno za preradu pod uslovom da se poštuju osnovni principi tehnologije (prerada odmah po ulovu, hlađenje, sanacija itd.).

## SAŽETAK

U radu je obrađeno bakteriološko ispitivanje ribnjačke vode u Vojvodini iz površinskih i dubljih slojeva, kao i bakteriološka analiza riba, odnosno područje površine trupa (krljušti i škrge), te meso šarana. Uzroci su uzimani četiri puta kvartalno u toku godine.

U radu su korištene standardne metode, koje se koriste prilikom ovakvih ispitivanja.

Utvrdeno je slijedeće:

— površinski slojevi ribnjaka su manje zagađeni od dubinskih, bez obzira na godišnje doba

— u periodu mart — septembar je broj bakterija manji u svim slojevima nego u doba septembar — mart

— tokom čitave godine i u površinskim i u dubinskim slojevima nalaze se koliformne bakterije i gram-negativni štapići

— na krljuštima i površini škriga su razne vrste mikroorganizama, te godišnje doba nema uticaja na njihov nalaz

— na krljuštima nema patogenih organizama za razliku od pozitivnog nalaza na škrigama

— meso zdravih riba ima neznatan broj aerobnih bakterija

— meso riba iz ribnjaka podesno je za preradu pod uslovom da se poštuju osnovni principi tehnologije (prerada odmah po ulovu, hlađenje, sanitacija itd.).

#### Summary

#### A BACTERIOLOGICAL LOOK AT FISH-POND WATERS AND FISH MEAT

A bacteriological study of fish-pond waters in Vojvodina taken from the surface and deeper layers

is discussed. Also, a bacteriological analysis of fish in the area of surface (trupa turbot (scales and gills) and carp meat was performed. Samples were taken four times quarterly for one year.

Standard methods for this type of experiment were used. It was established that:

— the surface layers of the fish-ponds are less polluted than the deeper layers regardless of the time of year,

— from March to September there is less bacteria in all layers than in the period from September to March,

— throughout the year in surface as well as the deeper layers coliphormne? bacteria gramnegative sticks were found,

— on the scales and gills different aypes of micro-organisms were found, therefore the time of the year does not influence their result;

— the scales don't have pathogenic organisms as do the positive results on the gills;

— the meat of the heathy fish has an unknown number of aerobic bacteria and finally;

— the fish meat from fish ponds is advisable for alterations if consideration is given first to the basic principles of technology (altering immediately after catching, coldness, anitation etc.).

Primljeno 13. 4. 1984.